PCR Secuenciación

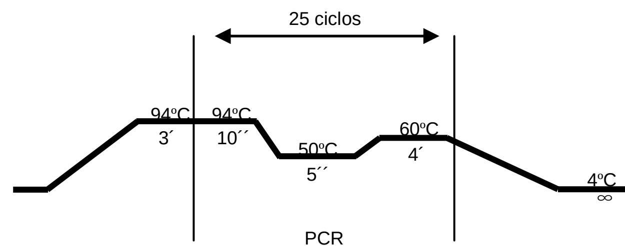
Se trabaja sobre hielo

Mezcla de reacción: Volumen total con la muestra=**10µL** (8µL de mezcla más 2µL de producto de PCR-EXOSAP).

Componente	Volumen en µL (1 tubo)
H_2O (miliQ)	4,6
Big dye v1.1	1,4
Oligo (F ó R) 5µM	1
Sequencing buffer 5X	1
Total	**8**

Se mezcla:
- 8µL de mezcla anterior
- 2µL de producto de muestra.

Condiciones PCR: SECUENC (2 horas 30 min)



Se realizó la precipitación con Etanol.

Precipitación con etanol

Mantener a: 4ºC

- Para cada tubo añadir sobre la reacción de la PCR90 µL de Et OH al 70%
- Incubar 20 min tª ambiente.
- Centrifugar 14,000 rpm 20 min 4ºC.
- Quitar el sobrenadante, sin arrastrar el DNA.
- Lavar con 0,25 mL de EtOH 70%.
- Centrifugar 2 min 14,000 rpm 4ºC.
- Eliminar el sobrenadante
- Dejar secar al aire o en estufa 5 min a 37ºC y guardar a -20 hasta llevar a secuenciar.